

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K631-M

产品规格: 96T(40 samples)

检测仪器: 酶标仪(390-410 nm)

Elabscience® β -半乳糖苷酶(β -GAL)比色法测试盒

β -Galactosidase (β -GAL) Activity Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测动植物组织以及细胞样本中的 β -半乳糖苷酶的活力。

检测原理

β -半乳糖苷酶能够催化底物硝基苯基吡喃半乳糖苷生成硝基苯酚，硝基苯酚在 400 nm 有最大吸收峰，通过测定在单位时间内吸光度值的变化量来计算 β -GAL 的酶活。

本试剂盒检测组织或细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	25 mL×1 瓶	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	底物 (Substrate)	粉剂×1 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	激活剂 (Activator Agent)	1.5 mL×1 支	2-8℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	显色剂 (Chromogenic Agent)	25 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	20 mmol/L 标准品溶液 (20 mmol/L Standard Solution)	1 mL×1 支	2-8℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	96 孔覆膜	2 张	
	样本位置标记表	1 张	

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪 (390-410 nm，最佳检测波长 400 nm)、离心机、恒温箱(37 ℃)

试剂：双蒸水

试剂准备

① 检测前，所有的试剂平衡至室温。

② 试剂二工作液配制：

每瓶试剂二加入2 mL试剂一，在90-100 ℃水浴锅中加热溶解，冷却至室温待用；未用完部分可2-8 ℃保存7天。

③ 1 mmol/L标准品溶液配制：

试剂五用双蒸水稀释，按体积比1：19进行稀释(按需配制)，2-8 ℃保存7天。

④ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.1	0.2	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8
1 mmol/L 标准品(μL)	0	20	40	80	100	120	140	160
双蒸水(μL)	200	180	160	120	100	80	60	40

样本准备

① 样本处理

组织样本：组织处理的匀浆介质为试剂一，若离心后上清液浑浊，可将上清反复离心后使用。

细胞样本：将收集好的细胞按细胞数量 1×10^6 ：试剂一体积 200 μL 的比例进行匀浆，10000 $\times g$ 离心 10 min，取上清待测。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：16.19-1200.0 U/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%小鼠肝脏组织	不稀释	10%大鼠脑组织	不稀释
10%大鼠肾脏组织	3-5	10%大鼠肝脏组织	1-3
10%大鼠心脏组织	不稀释		

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

- ① 试剂五使用前分装出一部分，避免试剂污染。
- ② 试剂二工作液使用前需先进行加热溶解，然后待其平衡至室温再使用。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μL 不同浓度标准品加入对应的酶标孔中；
测定孔：取 20 μL 样本加入对应的酶标孔中；
对照孔：取 20 μL 样本加入对应的酶标孔中；
- ② 向步骤①中测定孔加入 30 μL 试剂二工作液，对照孔与标准孔加入 30 μL 试剂一；
- ③ 向步骤②的各孔中各加入 10 μL 试剂三；
- ④ 振板混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 40 min；
- ⑤ 向步骤④各孔中加入 140 μL 试剂四；
- ⑥ 振板混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 10 min；
- ⑦ 酶标仪于波长 400 nm 处测定各孔 OD 值。

操作表

	标准孔	对照孔	测定孔
不同浓度的标准品溶液(μL)	20	--	--
样本(μL)	--	20	20
试剂一(μL)	30	30	
试剂二工作液(μL)	--	--	30
试剂三(μL)	10	10	10
振板混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 40 min。			
试剂四(μL)	140	140	140
振板混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 10 min，酶标仪 400 nm 处测定各孔吸光度。			

本试剂盒检测组织和细胞样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用本公司 BCA 试剂盒(货号 E-BC-K318-M)进行测定。

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

组织与细胞样本中 β -GAL 酶活(按组织蛋白计算):

定义: 37 °C 条件下, 每克蛋白每小时水解底物生成 1 μmol 对硝基苯酚所需要的 β -GAL 酶量定义为一个酶活力单位。

$$\frac{\beta\text{-GAL 含量}}{(\text{U/gprot})} = (\Delta A_{400} - b) \div a \div C_{\text{pr}} \div T \times f \times 1000^*$$

组织样本中 β -GAL 酶活(按组织湿重计算):

定义: 37 °C 条件下, 每千克组织样本每小时水解底物生成 1 μmol 对硝基苯酚所需要的 β -GAL 酶量定义为一个酶活力单位。

$$\frac{\beta\text{-GAL 含量}}{(\text{U/kg wet weight})} = (\Delta A_{400} - b) \div a \div (m \div V) \div T \times f \times 1000^*$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA_{400} : 样本测定 OD 值-对照 OD 值

T: 孵育反应时间, 2/3 h

C_{pr} : 组织或细胞样本蛋白浓度: gprot/L

V: 加入试剂一体积, 0.9 mL

m: 样本的质量, 0.1 g

f: 加入检测体系前样本稀释倍数

1000*: 1 mmol/L = 1000 $\mu\text{mol/L}$

附录1 关键数据

1. 技术参数

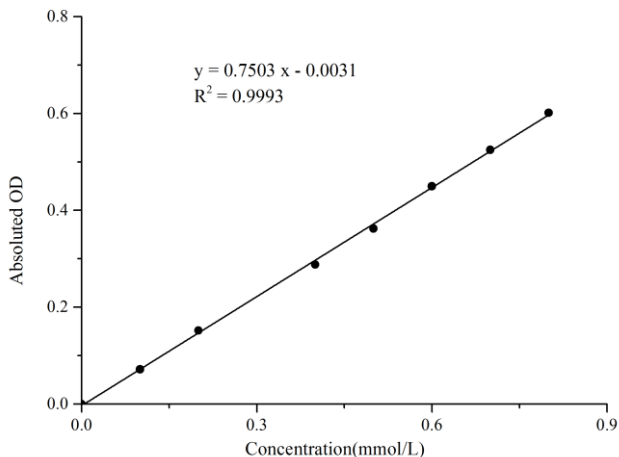
检测范围	16.19-1200 U/L	平均批间差	6.0 %
灵敏度	16.19 U/L	平均批内差	3.0 %
平均回收率	101 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量20 μ L，按照操作步骤进行实验，各点OD值如下表所示：

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.1	0.2	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8
OD 值	0.040	0.112	0.186	0.330	0.403	0.489	0.562	0.640
	0.040	0.112	0.198	0.326	0.402	0.491	0.568	0.640
平均 OD 值	0.040	0.112	0.192	0.328	0.403	0.490	0.565	0.640
绝对 OD 值	0.000	0.072	0.152	0.288	0.363	0.450	0.525	0.600

②制标准曲线，如下图所示：



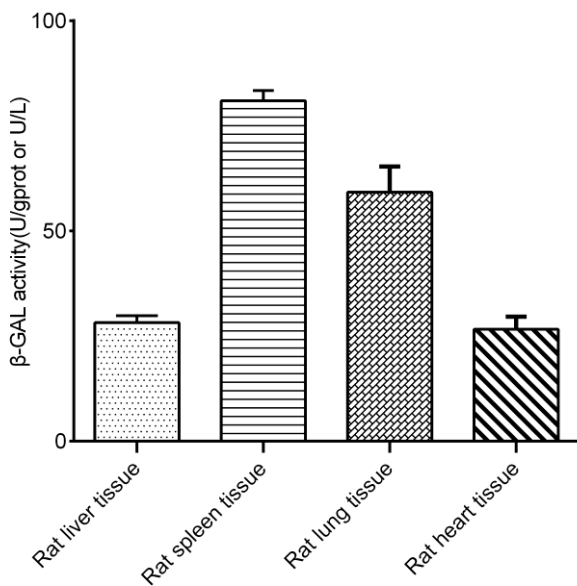
附录2 实例分析

例如检测大鼠肝组织(数据仅供参考):

取10%大鼠肝脏组织匀浆,取20 μL 上清液,按操作表操作,结果如下:
标准曲线: $y = 0.7503x - 0.0031$, 样本对照孔平均OD值为0.190, 样本测定孔平均OD值为0.364, 10%大鼠肝脏组织匀浆蛋白浓度为12.50 gprot/L计算结果为:

$$\beta\text{-GAL 活力 (U/gprot)} = ((0.364 - 0.190 + 0.0031) \div 0.7503) \div 12.5 \div \frac{2}{3} \times 1000 = 28.32 \text{ U/gprot}$$

按照说明书操作,测定大鼠肝脏组织(10%组织匀浆蛋白浓度为12.50 gprot/L, 加样量20 μL)、大鼠脾组织(10%组织匀浆蛋白浓度为7.51 gprot/L, 加样量20 μL)、大鼠肺组织(10%组织匀浆蛋白浓度为3.05 gprot/L, 加样量20 μL)和大鼠心组织(10%组织匀浆蛋白浓度为4.41 gprot/L, 加样量20 μL)中 $\beta\text{-GAL}$ 活力(如下图):



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
体系不显色或显色不明显	样本浓度低或者稀释倍数较大	增加上样量或重新匀浆提高匀浆浓度
	孵育时间较短	按照说明书进行实验

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H₂O₂ generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatfrom induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675
11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on

- monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. IF:7.573
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. IF:7.514
 13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. IF:7.376
 14. Zhao X, Wang C, Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1 α -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. IF:7.31
 15. Chagas TQ, Freitas N, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. IF:7.086
 16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021 Jul;139:111570. IF:6.529
 17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. IF:6.525
 18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. IF:6.313
 19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. IF:6.312
 20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. IF:6.233
 21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell

Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. IF:6.113

22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- κ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. IF:6.023
23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. IF:5.952
24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. IF:5.923
25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. IF:5.878
26. Marzocco S, Fazeli G, Di Micco L, et al. Supplementation of Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. IF:5.688
27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. IF:5.604
28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- β Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. IF:5.59
29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 IF:5.546
30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. IF:5.508